第 35 卷 第 3 期　　昆 虫 学 报　　Vol. 35, No. 3
1992 年 8 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Aug., 1992

抑太保对亚洲玉米螟表皮酚氧化酶及几丁质酶活力的影响

吴 刚　　尚稚珍
(福建农学院植物保护系，福州 350002)　(南开大学元素有机化学研究所，天津 300071)

摘要 采用饲喂法，抑太保 (Atabron, IKI-7899) 对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 幼虫的 LC_{50} 约是灭幼脲 I 号的 1/10。体内和体外实验表明，抑太保及灭幼脲 I 号均能导致幼虫表皮酚氧化酶及几丁质酶活力显著增高。与对照相比，饲喂抑太保及灭幼脲 I 号，五龄幼虫表皮酚氧化酶活力分别增长 276.00% 和 28.00%、几丁质酶活力分别增长 42.25% 和 13.62%；腹腔注射抑太保及灭幼脲 I 号，五龄幼虫表皮酚氧化酶活力分别增长 74.86% 和 37.98%、几丁质酶活力分别增长 68.18% 和 28.86%。我们认为，酚氧化酶及几丁质酶活力的增高应是抑太保及灭幼脲 I 号导致玉米螟死亡的重要原因。

关键词　亚洲玉米螟　抑太保　酚氧化酶　几丁质酶

抑太保 (ATABRON、Chlorfluazuron, IKI-7899) 是日本继灭幼脲之后开发的一种新型几丁质抑制剂，能强烈地干扰昆虫正常的生长发育和蜕皮变态过程，且杀虫效果明显优于灭幼脲(潘文亮和林汉连，1989)。Ammar 等 (1986) 报道了 5 种苯甲酰脲类杀虫剂：抑太保，灭幼脲，Dowco-439，Triflumuron 及 XRD-473，无论是室内还是田间对甘兰菜蚜 *Brevicoryne brassicae* 均很有效，尤以抑太保和 XRD-473 效果更佳。抑太保的田间应用效果也很好(石原产业株式会社，1988)。有关抑太保抑制昆虫蜕皮变态的生理生化机制方面的工作，目前尚未见报道。本文以亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 幼虫为试材，进行了抑太保及灭幼脲 I 号的毒力测定，在此基础上，通过体内和体外实验研究抑太保对幼虫表皮酚氧化酶及几丁质酶活力的影响，并与灭幼脲 I 号进行了比较，试图对抑太保的毒理机制作初步的探讨。灭幼脲能造成昆虫在蜕皮期间几丁质减少，从而抑制正常的生长和蜕皮变态过程，大部分的报道认为是由于几丁质合成酶活性受抑制 (Cohen, 1987)，Ishaaya 和 Casida(1974) 证实，灭幼脲能导致家蝇幼虫表皮几丁质酶活力增高，我们的工作进一步支持了 Ishaaya 等的观点。由于抑太保与灭幼脲均属苯甲酰脲类几丁质抑制剂，因此研究抑太保的毒理机制不仅可以对其毒力效应提供生理生化方面的解释，也有助于对苯甲酰脲类几丁质抑制剂作用机制的了解。

材 料 与 方 法

一、供试昆虫及药品

亚洲玉米螟幼虫取自本实验室，由室内半人工饲料长期饲养获得。抑太保为 50mg/ml 乳油，化学结构为

本文于 1991 年 1 月收到。

由日本石原产业株式会社提供。灭幼脲 I 号结晶纯度>96%，化学结构为

由苏州大学化学系提供。

二、药物对玉米螟幼虫处理

用含毒饲料（1.25 μg/g 饲料）饲养 4 龄初玉米螟幼虫，饲养之前称一次体重，以后每 24 小时称量一次，每种杀虫剂处理 20 头幼虫，每个小皿内饲养一头幼虫，求出每头幼虫 24 小时后体重增长毫克数，最后求平均值。

三、生物测定方法

采用饲喂法。将 0.25ml 不同浓度的药液置于 5g 半人工饲料中，待丙酮挥发净后，接入幼虫，每次试验用 6—8 种浓度，每种浓度重复二次，每种浓度处理 20 头幼虫，对照处理用丙酮。幼虫在含毒饲料上取食一天后，转入正常饲料中，随时间进程，连续统计累计死亡率，用机率分析法求出其 LC_{50}。

四、幼虫表皮酚氧化酶及几丁质酶活力测定

1. 酶的制备：于冷的缓冲液中剪去幼虫头部，除去内脏，取幼虫胸部和腹部表皮于 0.1mol/L、pH7.0 磷酸缓冲液中匀浆，以 12000rpm 在 0℃ 下离心 15 分钟，取上清液作为酶源。

2. 酚氧化酶及几丁质酶活力测定：参照 Ishaaya 和 Casida (1974) 方法进行。酚氧化酶的反应底物为儿茶酚，几丁质酶反应底物为几丁质。

3. 蛋白质含量测定：采用 Lowry 法，用牛血清白蛋白制作标准曲线。

4. 药物对酶活力的影响：体内实验采用饲喂含毒饲料和腹腔注射药物方法，一定时间后用蒸馏水冲洗虫体体表三遍，然后解剖虫体获取表皮。体外实验先在酶液中加入药物预保温 5 分钟，然后加入底物进行反应。同一组实验选用同一饲养瓶内生理状态一致的同一日龄幼虫为试材。

结 果 与 分 析

一、药物对亚洲玉米螟幼虫体重增长的影响

与对照相比，饲喂抑太保及灭幼脲 I 号后，幼虫体重日增长值明显下降（见图 1），特别是饲喂抑太保后下降更为急剧，图 1 中出现负值是由于幼虫不取食，身体缩小，体重不增加反而减轻；而正常饲养的幼虫体重日增长值最大，到 5 龄末期，体重增长趋于平缓。

二、中毒征象及药物的毒力比较

玉米螟幼虫取食抑太保后，虫体生长及蜕皮变态过程受阻，体色变暗，腐软，幸存的幼虫可在蛹期或羽化后出现中间虫态和各种畸型，表现在蛹腹部表皮鞣化不完全，蛹体变黑，出现半蛹半成虫，成虫翅短小甚至呈翅突状，翅呈扭曲状不能展平，成虫腹部细小。抑太保及灭幼脲I号对亚洲玉米螟幼虫的毒力测定结果见表1。从表1可以看出抑太保毒力明显高于灭幼脲I号，对3龄幼虫，LC_{50}比值约为110倍。抑太保是一种缓效型杀虫剂，其药效在用药几天后表现更为突出。对5龄幼虫，虽然从幼虫死亡率看 LC_{50} 较高，但至蛹期特别是羽化后其 LC_{50} 仍是很低的。

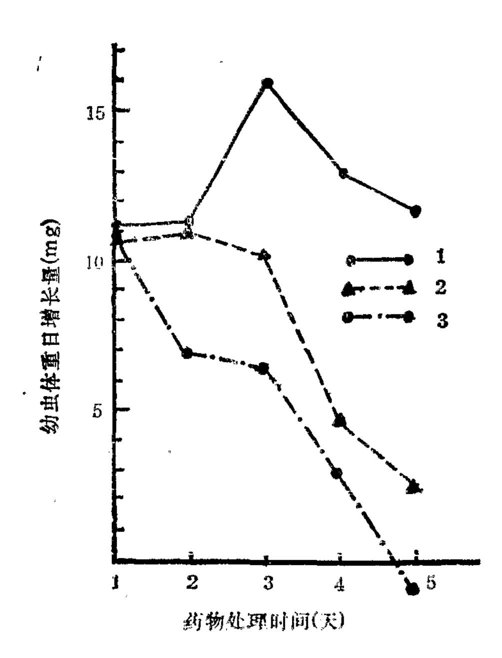


图1 药物对幼虫体重日增长量的影响
1.对照 2.饲喂灭幼脲I号 3.饲喂抑太保

三、药物对酚氧化酶及几丁质酶活力的影响

1. 不同剂量抑太保对酶活力的影响：由表2和表3可以看出，不同剂量抑太保处理亚洲玉米螟5龄幼虫后，虽然不同的抑太保处理剂量与酚氧化酶及几丁质酶活力变化之间未呈有规律的变化，但抑太保在幼虫体内对酚氧化酶及几丁质酶活力的激活作用是显著的。

2. 体内和体外抑太保及灭幼脲I号对酶活力的影响：以5龄幼虫为试材，对照处理用丙酮。体内和体外实验的结果均表明抑太保和灭幼脲I号能导致幼虫表皮酚氧化酶及

表1 抑太保及灭幼脲I号对亚洲玉米螟幼虫的毒力比较

龄 期	药 剂	LC_{50}(ppm)					
		2天	3天	4天	5天	至蛹期	至羽化
3龄	抑太保	26.99		6.32	3.12		
	灭幼脲I号				342.20		
5龄	抑太保		139.29			70.96	5.39

表2 不同剂量抑太保对酚氧化酶活力的影响

饲喂剂量* (μg/g 饲料)	酶活力(O.D 值/mg 蛋白质·分钟)	活力增长(%)
丙 酮	0.096	0
0.312	0.104	8.33
0.625	0.230	139.65
1.250	0.196	104.16
2.500	0.210	119.89

* 饲喂抑太保4天后取表皮

表 3　不同剂量抑太保对几丁质酶活力的影响

注射剂量* (μg/头)	酶活力(O.D 值/mg 蛋白质·小时)	活力增长(%)
丙酮	0.194	0
1	0.271	39.69
2	0.313	61.34
10	0.296	52.58

* 注射抑太保 24 小时后取表皮

表 4　抑太保及灭幼脲 I 号对酚氧化酶活力的影响

处理方法	药　　剂	酶活力(O.D 值/mg 蛋白质·分钟)	活力增长(%)
饲喂法*	丙酮	0.050	0
	灭幼脲 I 号	0.064	28.00
	抑太保	0.188	276.00
注射法**	丙酮	0.358	0
	灭幼脲 I 号	0.494	37.98
	抑太保	0.626	74.86
体外激活	丙酮	0.202	0
	抑太保 (2.5μg)	0.294	45.56
	抑太保 (5μg)	0.334	65.35

* 饲喂量为 12.5μg/g 饲料，5 天后取表皮。
** 注射量为 2 μg/头，24 小时后取表皮。

表 5　抑太保及灭幼脲 I 号对几丁质酶活力的影响

处理方法	药　　剂	酶活力(O.D 值/mg 蛋白质·小时)	活力增长(%)
饲喂法*	丙酮	0.213	0
	灭幼脲 I 号	0.242	13.62
	抑太保	0.303	42.25
注射法**	丙酮	0.198	0
	灭幼脲 I 号	0.250	28.86
	抑太保	0.333	68.18
体外激活	丙酮	0.210	0
	抑太保(2.5μg)	0.240	14.29

* 饲喂量为 12.5μg/克饲料，5 天后取表皮。
** 注射量为 2μg/头，24 小时后取表皮。

几丁质酶活力明显增高，抑太保的影响效应高于灭幼脲 I 号(见表 4 和表 5)。

讨　　论

体内和体外的实验均表明，抑太保及灭幼脲 I 号能导致亚洲玉米螟幼虫表皮酚氧化酶及几丁质酶活性的显著增高。由于酚氧化酶活力增高，导致幼虫表皮变黑，由于几丁质酶活力的增高，使得几丁质分解代谢加快，破坏了体内原有的几丁质分解与合成的动态平

衡，干扰了蜕皮过程中表皮几丁质的沉积，从而干扰了表皮的正常形成。由于不能形成新表皮，或由于新形成的不完善的表皮缺乏几丁质而缺乏强度，无法承受蜕皮过程中体内的压力及肌肉牵拉，因而旧表皮不能蜕下或不能完全蜕下。我们曾以二化螟 *Chilo suppressalis* 幼虫为试材，通过石蜡切片方法证实抑太保能抑制二化螟幼虫表皮皮层溶离的发生及新表皮的形成(吴刚等，1990)。我们认为酚氧化酶及几丁质酶活力的增高应是抑太保及灭幼脲Ⅰ号导致亚洲玉米螟死亡的重要原因。抑太保对两种酶的激活作用均要高于灭幼脲Ⅰ号，这与生物测定的结果是一致的，从生理生化水平上解释了抑太保毒力比灭幼脲Ⅰ号更高的部分原因。

抑太保和灭幼脲Ⅰ号对酚氧化酶的激活效应高于对几丁质酶的激活效应，且作用时间也更为迅速，如采用注射法，在8小时后即可看到酚氧化酶活力明显增高。从中毒征象看，最先的表现也是表皮暗淡、黑化。可能抑太保及灭幼脲Ⅰ号在虫体内首先是导致了亚洲玉米螟幼虫表皮酚氧化酶活力的迅速增高，而对几丁质酶的影响比较缓慢，其效应要在晚些时候才表现出来。

抑太保能强烈地抑制幼虫的体重增长，同时，低剂量的处理可导致幸存幼虫在以后的虫态中形成中间虫态及各种畸型，这似乎又表明抑太保作为一种昆虫生长调节剂，其毒理机制是多方面的，不仅干扰表皮的生长，还有其它的作用机制，缓慢地干扰虫体其它的生理代谢途径，虽不能立刻致死，其效应却可以在以后的虫态表现出来，这方面的工作尚待进一步深入研究。

参 考 文 献

石原产业株式会社 1988 新型杀虫剂抑太保试验成绩汇编。

潘文亮、林汉连 1989 几种几丁质合成抑制剂对棉铃虫生物活性的研究。昆虫学报 **32**(1)：32—8。

吴刚、尚雅珍 1990 运用培养的二化螟表皮检测几丁质抑制剂——ATABRON 生物活性。福建农学院学报 **19**(3)：295—9。

Ammar, I. M. A., E. T. E. Darwisn, A. I. Farag & A. A. Eisa 1986 Detrimental effects of five molt-inhibiting insect growth regulators on the development and reproduction of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*. *J. Appl. Entomol.* **102**(4): 417—22.

Cohen, E. 1987 Chitin Biochemistry: synthesis and inhibition. *Ann. Rev. Entomol.* **32**: 71—93.

Ishaaya, I., & J. E. Casida 1974 Dietary TH6040 alters composition and enzyme activity of housefly larval cuticle. *Pestic. Biochem. Physiol.* **4**: 484—90.

EFFECTS OF ATABRON ON PHENOLOXIDASE AND CHITINASE IN THE CUTICLE OF *OSTRINIA FURNACALIS* LARVA

WU GANG

(*Department of Plant Protection, Fujian Agricultural College, Fuzhou* 350002)

SHANG ZHI-ZHEN

(*Institute of Elemento-organic Chemistry, Nankai Universege, Fuzhou* 350002)

Atabron (chlorfluazuron, IKI-7899), a new chitin inhibitor, is a very effective pesticide. The symptom of *Ostrinia furnacalis* larva treated with atabron was found to be similar to that by TH6040 (diflubenzuron). However, there is a great difference in their toxicity, atabron being 110 times higher. Our experimental results indicated that this difference was due to the difference in promoting the phenoloxidase and chitinase activities in the larval cuticle. The activity of cuticular phenoloxidase of fifth instar larvae fed with atabron or TH6040 increased 276% and 28% respectively, and the activity of chi inase 42.3% and 13.6% respectively. When they were injected into the abdomen of the fifth instar larvae, the increase of phenoloxidase was 74.9% and 39% respectively, and the increase of chitinase 68.2% and 28.9% respectively. The increase of phenoloxiase and chitinase activities are presumably the important factors impeding the growth and ecdysis of the corn borer larvae.

Key words *Ostrinia furnacalis*——atabron——phenoloxidase——chitinase